2014 年 4 月 （第 1 版）

［研究用試薬］

糞便前処理キット「ポタット」≪取扱説明書≫

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【本キットの概要】

本キットは、鶏糞便中に含まれるカンピロバクターまたはサルモネラを「NH イムノクロマトシリーズ」で検出するために鶏糞便の前処理を行うキットです。本キットで鶏糞便を処理することで、糞便成分に起因したイムノクロマト法における反応異常を抑制し、正しく判定を行うことができます。また、鶏糞便を培養することなく直接検査できるため、農場や食鳥処理施設などで使用可能です。

【キットの内容】

構成品

A： 希釈容器（希釈液入り）・・・・・・・・・・20 本
B： スポイト・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・20 本
C： 小型チューブ(ロック付)・・・・・・・・・・20 本
D： 添加剤・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1 本
E： 取扱説明書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1 部

（注 1） イムノクロマトテストストリップは本キットに付属しておりません。「NH イムノクロマト カンピロバクター」または「NH イムノクロマト サルモネラ」を別途ご準備の上、ご使用ください。

【キット使用方法】

1） 必要な機器・器材

加熱処理に必要な器材(コンロ、鍋 など)(注 2)、1.5 mL チューブ立て

（注 2） 加熱処理に必要な器材はヒートブロック(95℃)または熱湯を入れた保温ポットでも代用できます。

2） 試料の調製

① 落下鶏糞便、内臓由来の盲腸便を希釈容器のふた付きスプーンで山盛り 1 杯(0.5～1g)採取してください。(注 3)
② 鶏糞便を採取したスプーンを希釈容器中の希釈液に入れ、ふたをした後上下に振り混ぜ、希釈液とよく混合してください。
③ 平らなところに②の希釈容器を置き、室温で 10 分間以上静置してください。(注 4)
④ 静置後、③のふたを開け、スポイトを用いて一番下の目盛(0.5 mL)まで上澄を取ります。
⑤ ④の上澄を小型チューブに移します。小型チューブのふたをしっかり閉めてから、ロックしてください。(注 5)使用したスポイトは手順⑨で再度使用します。
⑥ 上澄を入れた小型チューブを 10 分間煮沸してください。(注 6)(注 7)
⑦ 煮沸した後、小型チューブを 5 分間以上静置して、室温程度まで冷ましてください。(注 8)その後、小型チューブのふたを開け、添加剤を 2 滴 (約 100μL) 加えます。
⑧ 添加後、転倒混和し、平らな場所に設置したチューブ立てにふたを上にして立てて、10 分間以上静置してください。(注 4)
⑨ 小型チューブの上澄を④で使用したスポイトで少量取り、これを試料液として 2～3 滴 (約 100～150 μL)を「NH イムノクロマトシリーズ」(カンピロバクター、サルモネラ)のテストストリップに滴下してください。(注 9) イムノクロマトの操作方法、判定方法は「NH イムノクロマトシリーズ」添付の取扱説明書に従ってください。

当社中央研究所ホームページにて簡易マニュアルをご用意しています。 http://www.rdc.nipponham.co.jp/poisoning/index.html

（注 3） 鶏糞便は落下糞便、盲腸便ともできるだけ乾燥していない新鮮なものを検体としてご使用ください。
（注 4） 静置が不十分な場合、糞便成分が混入することによって試験液がテストストリップ上で正常に展開せず、試験が成立しない場合があります。
（注 5） ふたを閉めてからロックをしっかりと押し上げてください。ふたのロックがしっかり閉まっていないと、煮沸中にチューブのふたが開いてしまう場合があります。
（注 6） 煮沸が困難な場合は、保温ポットなど保温できる容器に熱湯を入れ、その中に 10 分間以上浸けることでも代用できます。95℃に設定したヒートブロックもご使用いただけます。
（注 7） やけどをしないよう、熱湯の取り扱いには十分ご注意ください。
（注 8） 室温程度まで冷まさないと、検査結果が異常を示す場合があります。
（注 9） 手順④、⑨では同じ検体に対して同一のスポイトを使用してください。別の検体で使用したスポイトを使用するとコンタミネーションの原因となります。

【試験例】

国内農場、食鳥処理場で採取された鶏糞便について、本キットを用いて前処理を行い、NH イムノクロマト カンピロバクターを用いて試験した結果を下表に示します。鶏糞便中のカンピロバクター菌数はリアルタイム定量 PCR により測定しました。

本キットを用いて前処理を行わなかった場合、カンピロバクター陰性検体 76 検体中 75 検体が NH イムノクロマト カンピロバクターで陽性となり、偽陽性反応を示しました。一方、本キットで前処理を行った場合、すべての検体が陰性と正しく判定されました。

また、カンピロバクター陽性検体について本キットを用いた場合の検出率は、鶏糞便 1g あたりのカンピロバクター菌数が 10^7 CFU、10^6 CFU、10^5 CFU、10^4 CFU の場合、それぞれ、100%、50%、56%、25%を示しました。(注 10)

カンピロバクター菌数（鶏糞便 1g 中）	検体数	イムノクロマト陽性数		本キット使用時検出率
		本キット不使用	本キット使用	
陰性	76	75	0	0%
10^3 CFU/g 程度	10	10	0	0%
10^4 CFU/g 程度	16	16	4	25%
10^5 CFU/g 程度	25	25	14	56%
10^6 CFU/g 程度	20	20	10	50%
10^7 CFU/g 程度	10	10	10	100%

(注 10)　本結果は検査結果の一例であり、糞便採取場所、検体によって違いが生じる場合もありますので、ご注意ください。

【使用上または取り扱い上の注意事項】

1)　使用上の注意事項

① 本キットをご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
② 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外装ラベルに記載されています。
③ 検体によっては、本キットによる前処理でも反応異常の解消が困難な場合があります。本キットを用いた試験系で得られた結果については、必ず他の方法により確認を行ってください。
④ 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順などのアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
⑤ ロット番号の異なる添加剤、希釈液を混ぜて使用しないでください。
⑥ 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2)　危険防止上の注意事項

① 鶏糞便検体には感染性の微生物や有害物質が存在する可能性があります。試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
② 試料溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
③ 本キットによる試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。

3)　廃棄上の注意事項

① 試験に使用した試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理（121℃、20 分）、もしくは 0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。
② 本キットならびに検体、試料溶液の残りなどを廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮し廃棄してください。

【保存方法・使用期限】

1)　保存方法:　冷蔵（2～8℃）にて保存してください（凍結厳禁）。
2)　使用期限 :　製造日より 12 ヶ月。

【包装単位】

糞便前処理キット「ポタット」　20 回分

〔販売元および問い合わせ先〕

キット外装ラベルに記載

〔製造元〕

〒300-2646　茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社　中央研究所
電話：029(847)7825／FAX：029(848)1256
URL：http://www.rdc.nipponham.co.jp